Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Rostock.
Direktor: Prof. Dr. Keeser.

Ueber die Einwirkung von Calcium- und Magnesiumchlorid auf Diastase und die Gewebsatmung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Herbert Meyer
aus Malchin.

Rostock
Winterbergs Buchdruckerei
1931.

Referent: Professor Dr. Keeser.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Im Rahmen von Untersuchungen, die zur Zeit im Rostocker Pharmakologichen Institut über die Wirkungen des Magnesiums ausgeführt werden, prüfte ich den Einfluss des Magnesium- und Calciumchlorids auf die Wirkung der Diastase und auf die Gewebsatmung. Hierbei wurde nicht nur die Qualität der Wirksamkeit der genannten Kationen miteinander verglichen, sondern auch die Abhängigkeit ihrer Wirkung von der Konzentration untersucht.

I. Einfluss von Magnesium- und Calciumchlorid auf Diastase.

Als Diastase oder Amylase bezeichnet man eine Gruppe von Enzymen, welche die Fähigkeit haben, Stärke abzubauen. Nach W. Grassmann[1]) ist die Amylase in ihrer Wirksamkeit abhängig von der Mithilfe einfacher Ergänzungsstoffe, nämlich gewisser anorganischer Ionen, besonders der Chlor-Ionen. Tierische Amylase findet man den Untersuchungen von H. Bierry und I. Giaja[2]) und V. Henri[3]) nach völliger Entfernung der Salze wirkungslos, aber durch Zusatz von Kochsalz kann die Aktivität wiederhergestellt werden. Dagegen wird bei der Amylase keimender Gerste keine Aktivierung durch Halogen-Ionen, beobachtet. Die Amylase verbindet sich nicht nur mit Halogen-Ionen, sondern auch mit NO_3' oder ClO_3' zu aktiven Komplexen, die sich durch ihr verschiedenes pH-Optimum unterscheiden. Daneben ist für die Amylase wahrscheinlich noch die Existenz eines spezifisch eingestellten Aktivators anzunehmen, dessen das Enzym für den Abbau niederer Dextrine bedarf. Amylase-Lösungen aus ungekeimter Gerste pflegen die Stärke niemals vollständig bis zur Stufe der Maltose abzubauen, doch lassen sich aus der Hefe Hilfsstoffe gewinnen, die das Enzym zur quantitativen Verzuckerung der Stärke befähigen.

Diastase findet sich in vielen menschlichen, tierischen und pflanzlichen Sekreten, vor allem Speichel, Pankreas, Leber, bei den Pflanzen in den Kryptogamen und ferner im Malz. Diastase ist ein ausserordentlich wirksames Ferment, es gibt die meisten Eiweissreaktionen (Millon-, Biuret-, Xanthoproteïnreaktion), Gerbsäure fällt Diastase aus, durch Säuren und Alkalien wird Diastase zerstört, ebenfalls durch Pepsin, nicht durch Trypsin (Oppenheimer[4]). Da dieses Ferment Stärke hydrolytisch spaltet, bezeichnet man die Diastase auch als amylolytisches Ferment.

Dieses Ferment wird durch hohe Temperaturen unwirksam gemacht; es wirkt am besten bei schwach alkalischer bis neutraler Reaktion (l. Wohlgemuth[5]). Das Wirkungsoptimum der Diastase liegt bei 36° bis 38°, in wässeriger Lösung wird sie bei 80° zerstört, in trockenem Zustande kann sie dagegen bis auf 150° erhitzt werden, ohne an Wirksamkeit einzubüssen (Wohlgemuth).

Nach Michaelis und Pechstein[7]) ist Diastase elektrolytfrei, wie erwähnt, wirkungslos, am stärksten wirksam ist sie bei Anwesenheit von Chloriden und Nitraten, weniger bei einer solchen von Sulfaten und Acetaten. Bariumchlorid und Calciumchlorid sollen hemmen.

Diastase kann sowohl qualitativ wie auch quantitativ nachgewiesen werden, qualitativ in der Weise, dass man Diastase-Lösung einer Stärke-Lösung zusetzt (Wohlgemuth[8])). Diese Mischung stellt man in einen Brutschrank bei 37°, entnimmt von Zeit zu Zeit kleine Proben und prüft durch Zusatz von Jod, wieviel Stärke abgebaut ist. Hierbei gibt unveränderte Stärke Blaufärbung, Erythrodextrin Rotfärbung und Achrodextrin und Maltose Gelbfärbung.

Dieses Nachweises der Wirksamkeit der Diastase bedienten wir uns, um den Einfluss von Magnesium- und Calciumchlorid in verschiedenen Konzentrationen auf Diastase zu prüfen und änderten hierbei die von Wohlgemuth angegebene Versuchsanordnung in folgender Weise ab:

1 g Stärke wurde mit 100 ccm kalten, destillierten Wassers gemischt und so lange in einer Porzellanschale gerührt, bis eine gleichmässige Suspension entstand. Diese Supension wurde über einer Gasflamme unter ständigem Rühren etwa 8 Minuten erwärmt, bis sich eine Aufhellung zeigte. Nach dem Abkühlen wurden je 5 ccm dieser Stärke-Lösung in 9 Reagenzgläser gefüllt und hierzu je 1 ccm Diastase-Lösung (1 g Diastase in 500 ccm Aqua dest.) gefügt. Unmittelbar darauf wurden die Gläser in einen Brutschrank von 36° gebracht. 20 Minuten später wurde 1 Reagenzglas herausgenommen und das in ihm befindliche Diastase-Stärke-Gemisch nach Umschütteln mit n/10 Jodjodkali-Lösung versetzt. Hierbei trat deutliche tiefblaue Färbung als Zeichen der Anwesenheit noch nicht durch die Diastase verdauter Stärke auf. Nach weiteren 15 Minuten erfolgte die Entnahme des zweiten Reagenzglases aus dem Brutschrank. Dieses Mal zeigte sich schon eine schwächere Blaufärbung der Stärkelösung durch Jodjodkali-Lösung,

nach weiteren 10 Minuten trat in dem jetzt dem Brutschrank entnommenen Reagenzglase bei Zusatz von Jodjodkali-Lösung nur noch eine sehr schwache Blaufärbung auf, beim vierten Reagenzglas, welches nach weiteren 10 Minuten entnommen wurde, war die Blaufärbung verschwunden als Zeichen dafür, dass die Stärke durch die Diastase vollkommen verdaut worden war. Ausserdem wurden noch Vorversuche angestellt mit einer Diastase-Verdünnung von 1 : 250 und 1 : 1000. Im ersten Falle ging die Verdauung der Stärke durch die Diastase sehr schnell vor sich, so dass schon nach etwa 20 Minuten eine Gelbfärbung der Lösung erfolgte; im zweiten Falle konnte man die Blaufärbung der Stärke durch Jod noch nach einer Stunde deutlich nachweisen.

Während diese Versuche dazu dienten, festzustellen, bei welcher Diastase-Konzentration der Abbau der Stärke so langsam erfolgte, dass er einer genauen Kontrolle zugänglich war, wurde in weiteren Untersuchungen der Einfluss von Magnesium- bzw. Calciumchlorid auf die Verdauung der Stärke durch Diastase geprüft, wobei jedes Mal als Kontrolle gleichzeitig ein Versuch angesetzt wurde, in dem anstelle von Magnesiumchlorid bzw. Calciumchlorid Aqua dest. zu dem Diastase - Stärke - Gemisch zugegeben wurde. Diese Versuche wurden, um die für die Diastasewirkung optimale Wasserstoffionen - Konzentration zu gewährleisten, mit gepufferten Lösungen in folgender Weise durchgeführt:

1 gr Stärke wurde in 75 ccm Aqua dest. gelöst (vgl. die obigen Ausführungen) und hierzu 13 ccm Citrat sowie 12 ccm NaOH des Puffergemisches nach Wohlgemuth gefügt. Von dieser Lösung wurden in 3 Kolben je 22,5 ccm eingebracht. Des weiteren wurden in den ersten Kolben 2,5 ccm Aqua dest., in den zweiten 2,5 ccm Calciumchlorid-Lösung und in den dritten 2,5 ccm Magnesiumchlorid-Lösung gegeben, wobei die Konzentrationen der beiden letztgenannten Salzlösungen variiert wurden. Nunmehr wurden in jeden der 3 Kolben 5 ccm Diastase-Lösung (1 : 500) eingetragen, und die Kolben in einen Brutschrank von 36° gestellt. Nach 10, 20, 30 und 40 Minuten wurden jedem dieser Kolben je 5 ccm Flüssigkeit entnommen und durch Zusatz von n/10 Jodjodkali-Lösung der Grad des Abbaues der Stärke geprüft.

1. Versuch.

Ablesung nach	10	20	30	40 Min.
Aqua dest.	+	++	++	++++
m/1 $CaCl_2$	–	++++	++++	++++
m/1 $MgCl_2$	+	+++	+++	+++

Nach 10 Minuten ist in der Kontrolle (Aqua dest.) bereits ein Abbau der Stärke zu beobachten, ein ebenso starker etwa bei Zusatz von Magnesiumchlorid, während in der calciumchloridhaltigen Lösung noch keine Wirkung der Diastase zu beobachten ist. Nach Einwirkung der Diastase von 20 Minuten Dauer ändert sich das Bild erheblich: Unter Calciumchloridzusatz ist bereits ein wesentlich stärkerer Abbau der Stärke erfolgt als unter Magnesiumchloridzusatz, und sowohl Calciumchlorid wie auch Magnesiumchlorid fördern die Tätigkeit der Diastase gegenüber der Kontrolle.

Das gleiche Bild zeigt sich auch nach 30 Minuten langer Einwirkung der Diastase, während nach 40 Minuten in der Kontrolle sowie in der calciumchloridhaltigen Lösung ein stärkerer Abbau der Stärke beobachtet wird, als es in der magnesiumchloridhaltigen Lösung der Fall ist.

Wurde den geschilderten Ansätzen statt mol-Lösung m/10 Lösung von Magnesiumchlorid bezw. Calciumchlorid und statt 5 ccm nur 2 ccm Diastase-Lösung zugesetzt, so verlief der Versuch wie folgt:

2. Versuch.

Ablesung nach	10	20	30	40	Minuten
Aqua dest.	+	++	++	++++	
m/10 $CaCl_2$	++	++++	++++	++++	
m/10 $MgCl_2$	+++	+++	+++	+++	

Auch bei diesen Versuchen wirkt demnach der Zusatz von Magnesiumchlorid bezw. Calciumchlorid fördernd auf die Tätigkeit der Diastase gegenüber der Kontrolle, wobei Calciumchlorid stärker fördert als Magnesiumchlorid.

Wurden Magnesiumchlorid bezw. Calciumchlorid statt in m/10 in m/100 Konzentration bei im übrigen gleicher Versuchsordnung zugefügt, ergaben die Versuche folgendes Bild:

3. Versuch.

Ablesung nach	10	20	30	40 Min.
Aqua dest.	+	++	++	++
m/100 $CaCl_2$	++	+++	++++	++++
m/100 $MgCl_2$	+++	+++	+++	+++

Das Ergebnis entspricht somit denjenigen, die in den vorstehend geschilderten Versuchen erhalten wurden.

In den nächsten Versuchen wurde Calciumchlorid und Magnesiumchlorid in m/1000 Konzentration (bei im übrigen gleicher Versuchsanordnung) zugefügt.

4. Versuch.

Ablesung nach	10	20	30	40 Minuten
Aqua dest.	+	++	+++	+++
m/1000 $CaCl_2$	++	+++	++++	++++
m/1000 $MgCl_2$	+++	+++	+++	+++

Auch hier ergibt die Untersuchung dasselbe Resultat, indem nämlich sowohl Calciumchlorid wie auch Magnesiumchlorid fördernd auf die Diastasetätigkeit wirken gegenüber der Kontrolle. Auch hier wirkt Calciumchlorid stärker fördernd als Magnesiumchlorid.

In m/10000 und m/100000 Konzentration zugesetzt, wirkten Magnesiumchlorid und Calciumchlorid wie folgt:

5. Versuch.

Ablesung nach	10	20	30	40 Min.
Aqua dest.	++	+++	+++	+++
m/10000 $CaCl_2$	++	++++	++++	++++
m/10000 $MgCl_2$	++	++	++	++

6. Versuch.
m/100000 $CaCl_2$ und $MgCl_2$.

Ablesung nach	10	20	30	40 Min.
Aqua dest.	+++	+++	+++	+++
m/100000 $CaCl_2$	++++	++++	++++	++++
m/100000 $MgCl_2$	++	++	++	++

In den genannten hohen Verdünnungen zugesetzt, zeigt sich bei Calcium wieder seine deutlich gegenüber der Kontrolle fördernde Wirkung, bei Magnesium-Zusatz eine gegenüber der Kontrolle hemmende Wirkung. Berücksichtigt man, dass in den vorstehend geschilderten Versuchen die jeweils zu den Ansätzen zugefügten Lösungen von $MgCl_2$ bezw. $CaCl_2$ hierbei um das zehnfache verdünnt wurden, so ergibt sich, dass der Zusatz von Calciumchlorid bezw. Magnesiumchlorid selbst in einer Verdünnung von 1 : 1000000 noch deutliche Wirkungen auf die Diastase-Wirkung ausübt, und die Art dieser Wirkung ist deswegen besonders bemerkenswert, da die Diastase zu den magnesiumhaltigen Fermenten gehört.

II.

Calcium besitzt gegenüber den übrigen Kationen den Vorzug, dass es bequemeren und zuverlässigeren analytischen Methoden zugänglich ist.[9]) Als feststehend kann angesehen werden, dass die Konzentration der Calciums in der Blutflüssigkeit unter normalen Bedingungen für den Menschen und eine Reihe anderer Tierarten sehr konstant ist, bei einer Anzahl Tierarten stimmt auch der Durchschnittswert sehr genau mit dem des Menschen überein. Bei kleineren Pflanzenfressern besteht offenbar die Tendenz zu höheren Werten. Mehrfach bestätigt ist eine wenn auch geringe Abhängigkeit des Calciumwertes vom Lebensalter insofern, als er in der Fötalzeit am grössten ist und dann allmählich zurückgeht. Die Jahreszeit spielt ebenfalls eine Rolle, indem im Frühjahr der Calciumwert sinkt; ebenfalls tritt bei Hunger und Schwangerschaft ein Absinken des Calciumwertes ein. Glaser[10]) fand, dass bei psychischer Erregung der Calciumwert des Blutes etwas steigt und bei Beruhigung wieder sinkt.

Über Magnesium ist weit weniger bekannt im Bezug auf pathologische und physiologische Vorgänge[11]). Der Gehalt des

Blutes an Magnesium beträgt ungefähr $2^1/_2$ mg %. Während wir beim Calcium z. B. bei Hunger, Schwangerschaft und Geburten ein Absinken bezw. Ansteigen des Calciumwertes beobachten, haben diese Zustände auf den Magnesiumwert keinen nennenswerten Einfluss.

Es ist bekannt, dass zwischen Calcium und Magnesium ein Antagonismus besteht (Kataishi[12]), wie es Versuche mit beiden Substanzen, die durch verschiedene Autoren angestellt worden sind, bestätigt haben. Es sei hier die Magnesium-Narkose erwähnt, die sofort durch intravenöse Zufuhr von Calcium aufgehoben wird (Meyer-Gottlieb[13]). Meneghetti[14]) glaubt, dass die Aufhebung der Magnesium-Narkose durch Calcium auf einer chemischen oder chemisch-physikalischen Eliminierung des Magnesiums beruht, oder aber dadurch zustande kommt, dass durch Calciumzufuhr die Calciumwerte zur Norm zurückgeführt werden.

Eine weitere antagonistische Wirkung von Calcium und Magnesium stellte Clowes[15]) bei Versuchen fest, die er anstellte über die Oberflächenspannung von Emulsionen. Clowes zeigte, dass Zusatz von etwa 1 prozentiger Natriumoleat-Lösung zu Olivenöl und Schütteln dieser Mischung mit Ringer-Langendorff'scher Lösung zur Bildung zweier gleichzeitig bestehender Typen von Emulsionen führt, nämlich Öl in Wasser und Wasser in Öl. Wird etwas m/6 $MgCl_2$-Lösung zugefügt, so entsteht eine Emulsion von Wasser in Öl. Wird darauf etwas m/6 $CaCl_2$-Lösung hinzugefügt, so verändert dieses die Lösung nach der Seite der Öl-Wasseremulsion hin. Der Grund für dieses Verhalten besteht nach Clowes in der verschiedenen relativen Löslichkeit von Magnesiumoleat und Calciumoleat in organischen Lösungsmitteln. Die pharmakologische Wirkung des Magnesiums soll nun darauf beruhen, dass es das Emulsionsgleichgewicht der Zellmembran im Sinne des Überwiegens der „Wasser in Öl Phase" stört, während Calcium das normale Verhältnis von „Wasser in Öl Phase" und „Öl in Wasser Phase" wiederherstellen soll.

Elisio Millheiro[16]) fand, die Wirkung von $CaCl_2$ und $MgCl_2$ auf die durch Veratrin am Froschmuskel bedingte Kontraktur völlig übereinstimmend sei: es sind fast genau dieselben Konzentrationen, die fördernd und hemmend auf den Veratrin-Effekt wirken. Auch die Aufhebung der durch Kaliumchlorid bedingten Hemmung des Veratrineffektes erfolgt durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$ in durchaus gleicher Weise. Schliesslich kann man zeigen, dass

unter sonst gleichen Bedingungen eine Mischung beider Salze genau so wirkt wie jedes einzelne für sich in der gleichen Konzentration.

L. Wacker[17]) fand, dass bei der Ermüdung und bei der Totenstarre des quergestreiften Muskels die Menge an löslichem Magnesiumphosphat im Kochextrakt des Muskels vermehrt wird. Diese Zunahme wurde mit der vermehrten Säuerung erklärt. Der Verfasser konnte zeigen, dass die Menge des im Kochrückstand zurückbleibenden Magnesiums in Abhängigkeit vom Umfang der Säurebildung steht. Bei sehr erheblicher Säurebildung wurde auch die Löslichkeit des Calciums vermehrt gefunden. Die vermehrte Ionisierung des Magnesiums und des Calciums wird als Ursache der Muskelermüdung angesehen. — Im Verfolg unserer eigenen Untersuchungen über die Wirkung von $CaCl_2$ und $MgCl_2$ prüften wir nun weiter den Einfluss der genannten Salze auf die Gewebsatmung mit Hilfe der von Lipschitz[18]) angegebenen Methode.

Über das Wesen der Wirkung von Nitroverbindungen herrschte lange Zeit keine einheitliche Vorstellung. In neueren Arbeiten konnte dann gezeigt werden, dass ihre typische Giftwirkung auf einer Umwandlung des Blutfarbstoffes in Methämoglobin beruht, und dass weiter die aromatische Nitrogruppe selbst kein Methämoglobin bildet. Für die Klärung ihrer Wirkungsweise waren von grundlegender Bedeutung P. Ehrlichs farbenanalytische Versuche, welche ergaben, dass erst die Reduktionsprodukte der Nitroverbindungen toxisch wirken. Wird nämlich einem Kaninchen eine Suspension von m-Dinitrobenzol in die Lunge eingegossen, so tritt eine intensive Braunfärbung des Lungenblutes, die sich bei spektroskopischer Untersuchung als Methämoglobin erweist, auf. Diese Veränderung des Lungenblutes beruht darauf, dass das Lungengewebe ein sehr starkes Reduktionsvermögen besitzt und infolgedessen die eingeführten Nitroverbindungen zu reduzieren vermag. Weitere Versuche ergaben, dass allgemein überlebende Gewebe zugesetztes gepulvertes Dinitrobenzol in wässriger Suspension reduzieren. Das hierbei gebildete m-Nitrophenylhydroxylamin entfaltet sehr intensive Giftwirkung auf den Blutfarbstoff; sowohl hämolysiertes Blut als auch der Blutfarbstoff intakter Blutkörperchen wird in Methämoglobin umgewandelt und für die Atmung unbrauchbar. Das gleiche Ergebnis zeigen Versuche am Frosch und Kaninchen, denen auf elektrisch-chemischem Wege rein dargestelltes Nitrophenylhydroxylamin verabfolgt wird. Als Hauptwirkung beobachtet man starke Dispnoe des Tieres, beruhend

auf Sauerstoffmangel infolge Degeneration der Erythrozyten. Die Stärke der Vergiftung ist bei den einzelnen Tieren sehr verschieden. Es ist charakteristisch, dass gleiche Mengen Muskelgewebe, das den lebenden Tieren (Frosch, Meerschweinchen, Katze, Kaninchen) entnommen wird, unter im übrigen gleichen Bedingungen ganz verschiedene Mengen von Nitrophenylhydroxylamin aus gleichen Mengen Dinitrobenzol bilden. Es ist bemerkenswert, dass der Kaninchenmuskel aus Dinitrobenzol in geringstem Umfange die giftige Reduktionsstufe darstellt, dass ferner das Kaninchen giftige aromatische N-haltige Körper am schnellsten in pharmakologisch unwirksame Verbindungen überführt, und dass endlich sein Hämoglobin am wenigsten empfindlich z. B. gegen Nitrophenylhydroxylamin ist, so dass die Gesamtwirkung beim Kaninchen wesentlich geringer als beim Frosch, Meerschweinchen und der Katze ist.

Des weiteren ist erwähnenswert, dass der erwähnte Reduktionsprozess durch Narkotika, durch 2 ‰ Chinin und 0,1 ‰ Blausäure, kurzes Erwärmen auf 60° und durch hypertonische Salzlösung gelähmt wird. Da zugefügter gepulverter Schwefel keine Abnahme der Reduktion bewirkt, erschien die Auffassung berechtigt, dass es wohl der Atmungsprozess selbst sei, der die Dinitrobenzolreduktion verursacht. Diese Vermutung erwies sich als richtig, da es gelang, durch mehrmaliges Auswaschen von zerkleinerter Muskulatur die Reduktion völlig aufzuheben und sie durch Zufügen von Muskelkochsaft wieder in Gang zu bringen. Da dieser Reduktionprozess auch durch andere Körpergewebe erfolgt, stellt diese Reduktionsfähigkeit offenbar eine allgemeine Eigenschaft atmender tierischer und pflanzlicher Zellen dar. Bei Muskelgewebe geht dieser Reduktionsprozess nicht mit der Phase der Kontraktion, sondern der Erholung des Muskels einher. Endlich konnte gezeigt werden, dass die Muskulatur unter anaeroben Bedingungen eine schnellere Reduktionswirkung auf die Nitroverbindungen ausübt.

Zusammenfassend lässt sich also folgendes sagen: Die lebenden Zellen entziehen, indem sie atmen, zugeführten Nitroverbindungen den Sauerstoff und reduzieren sie zu Hydroxylaminverbindungen; diese sind im Gegensatz zu den Nitroverbindungen schwere Blutgifte, sie wandeln das Hämoglobin in Methämoglobin um, unterbinden also die Zufuhr des für die Zellatmung notwendigen Sauerstoffs.

Nach diesen Betrachtungen sollen jetzt einige Versuche geschildert werden, in denen die Wirkung von Calcium- und Magnesiumchlorid auf diesen Stoffwechselvorgang geprüft wurde.

Versuchstechnik.

Eine abgewogene Menge feingeschnittener Froschmuskulatur wurde in Erlenmeyer-Kölbchen mit 15 ccm Kochsalzlösung vermischt. Angesetzt wurden drei Kolben mit je 15 ccm 0,6 %ig. Kochsalzlösung, darauf erfolgte zum ersten Kolben, dessen Inhalt später als Kontrollösung diente, ein Zusatz von 1 ccm Aq. dest.; zum zweiten Kolben ein solcher von 1 ccm $CaCl_2$ und zum dritten ein solcher von 1 ccm $MgCl_2$. Die Ansätze bleiben allen Versuchen dieselben, nur dass die Konzentrationen der Calcium- und Magnesiumchlorid-Lösungen verändert wurden. Nach 1/4 Stunde wurden je 0,3 g Dinitrobenzol zu allen drei Kolben hinzugefügt und nach mehrmaligem, kräftigen Schütteln der Inhalt sich selbst überlassen. Nach 5 Stunden wurde die Flüssigkeit aller drei Kolben filtriert, die Filtrate im Authenrieth'schen Kolorimeter verglichen und festgestellt, ob $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ die Nitrophenylhydroylamin-Bildung gegenüber Aq. dest. gefördert bezw. gehemmt hatten.

1. Versuch.

Es wurden zu den Ansätzen 1 ccm H_2O, 1 ccm $CaCl_2$ (5 m) und 1 ccm 5 m $MgCl_2$ zugefügt.

Es zeigte sich, dass die Nitrophenylhydroxylamin-Bildung bei diesen Versuchen so stark gehemmt wurde, dass eine Ablesung im Kolorimeter nicht möglich war. Es ging aus den Versuchen übereinstimmend hervor, dass die Nitrophenylhydroxylamin-Bildung bei einem Gehalt von $CaCl_2$ bzw. $MgCl_2$ in 0,31 m Konzentration fast völlig aufgehoben wurde.

2. Versuch.

Die Ansätze erfolgten wie oben geschildert. Es wurden zu Ansatz 1 1 ccm m $CaCl_2$, zu Ansatz 2 1 ccm m $MgCl_2$ zugegeben, Ansatz 3 mit Zusatz von Aq. dest. diente als Kontrolle. Die Konzentration an $CaCl_2$ bzw. $MgCl_2$ war also 0,0625 m. Auch hier erfolgte die Ablesung nach 5 Stunden.

Die in Ansatz 1 gebildete Menge an Nitrophenylhydroxylamin betrug 10 %, in Ansatz 2: 14 % der in der Kontrolle in derselben Zeit gebildeten Nitrophenylhydroxylamin-Menge. Es ergab

sich also eine starke Hemmung der Nitrophenylhydroxylamin-Bildung bei einer Konzentration von 0,0625 m/$CaCl_2$ und $MgCl_2$. Diese Hemmung war für beide Salze etwa gleich stark.

3. Versuch.

Ansatz 1 enthält 0,032 m $CaCl_2$,
Ansatz 2 enthält 0,032 m $MgCl_2$,
Ansatz 3 diente als Kontrolle.

Auch hier fand sich eine starke Hemmung der Nitrophenylhydroxylamin-Bildung durch $CaCl_2$, die Hemmung durch $MgCl_2$ war etwas geringer.

In Ansatz 1 wurden 22 %, in Ansatz 2 32 % der in der Kontrolle gebildeten Nitrophenylhydroxylamin-Menge gefunden.

4. Versuch.

Die Ansätze sind dieselben, nur diesesmal mit dem Zusatz von 1,0 ccm m/10 $CaCl_2$ und m/10 $MgCl_2$. Die Konzentration an $CaCl_2$ in Ansatz 1 und an $MgCl_2$ in Ansatz 2 betrug also 0,00625 m.

Auch hier fand sich eine starke Hemmung durch $CaCl_2$, die gebildete Nitrophenylhydroxylamin-Menge betrug in einem Versuch 16 %, in einem zweiten Versuch 45 % des in derselben Zeit in der Kontrolle gebildeten Nitrophenylhydroxylamins.

In dem Ansatz mit $MgCl_2$ fand sich ebenfalls eine Hemmung, die gebildete Nitrophenylhydroxylamin-Menge betrug 75 % der Kontrolle.

5. Versuch.

Dieser Versuch wurde angesetzt unter Zusatz von 1,0 ccm m/100 $CaCl_2$ bezw. 1 ccm m/100 $MgCl_2$. Die Konzentration an $CaCl_2$ in Ansatz 1 und die an $MgCl_2$ in Ansatz 2 betrug 0,000625 m.

Auch hier fand sich eine deutliche Hemmung durch $CaCl_2$ und eine geringere durch $MgCl_2$. Die in in Ansatz 1 gebildete Nitrophenylhydroxylamin-Menge betrug 60 %, die in Ansatz 2 gebildete 80 % des in der gleichen Zeit in der Kontrolle entstandenen Nitrophenylhydroxylamins.

6. Versuch.

Dieselben Ansätze, nur mit 1,0 ccm m/1000 $CaCl_2$ bezw. m/1000 $MgCl_2$ als Zusatz. Die Konzentration an $CaCl_2$ in Ansatz 1 und an $MgCl_2$ in Ansatz 2 betrug demnach 0,0000625 m. Es

wurde eine leichte Hemmung der Nitrophenylhydroxylamin-Bildung bei beiden Ansätzen festgestellt.

In Ansatz 1 wurden 88%, in Ansatz 2 93% des in der Kontrolle gebildeten Nitrophenylhydroxylamins gefunden.

7. Versuch.

Ansatz mit m/5000 $CaCl_2$ und m/5000 $MgCl_2$.

Die Konzentration an $CaCl_2$ in Ansatz 1 und 2 betrug somit 0,0000313 m.

Hier fand sich kein Einfluss auf die Nitrophenylhydroxylamin-Bildung.

In dem Ansatz mit $CaCl_2$ wurden 100%, in dem Ansatz mit $MgCl_2$ 98% des in der Kontrolle gebildeten Nitrophenylhydroxylamins gefunden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Reduktion des m-Dinitrobenzols zu Nitrophenylhydroxylamin durch eine Froschmuskelaufschwemmung weitgehend gehemmt wird bei Gegenwart stärkerer Konzentrationen von $CaCl_2$ und $MgCl_2$.

Bei einer Konzentration von 0,31 m $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ wurde dieser Reduktionsvorgang unter den angegebenen Bedingungen fast völlig unterbunden. Auch Calcium- und Magnesiumchlorid-Konzentrationen von 0,0625, 0,032 und 0,00625 m hemmten die Nitrophenylhydroxylamin-Bildung noch erheblich. Dabei war die Hemmung durch $MgCl_2$ in den angegebenen Konzentrationen stets geringer als die durch $CaCl_2$ verursachte.

Auch Konzentrationen von 0,000625 m $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ zeigten noch deutlich hemmende Wirkung; auch hier war die Hemmung durch $CaCl_2$ deutlich stärker.

Bei einer Konzentration von 0,0000625 m $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ in der Untersuchungsflüssigkeit liess sich nur noch eine geringe Hemmungswirkung feststellen. Bei einer Konzentration von 0,0000313 m $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ in den Ansätzen fand sich kein Einfluss auf die Nitrophenylhydroxylamin-Bildung.

Zusammenfassung.

1. Es wurde ein deutlicher Einfluss von $CaCl_2$ und $MgCl_2$, die in verschiedener Konzentration einer Diastaselösung zugesetzt wurden, auf die diastatische Spaltung der Stärke gefunden. Der Spaltungsverlauf wurde durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$ gefördert, durch ersteres stärker als durch letzteres.

2. Die Reduktion des m-Dinitrobenzols zu Nitrophenylhydroxylamin durch Froschmuskulatur wurde durch $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ — abhängig von der Konzentration der genannten Salze — gehemmt, und zwar war diese Hemmungswirkung bei Zusatz von $MgCl_2$ stets etwas geringer. Bei 0,0000313 molarer Konzentration der Salze konnte kein Einfluss mehr auf die Nitrophenylhydroxylamin- Bildung beobachtet werden.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Keeser für die Zuweisung des Themas und für die überaus gütige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Am 9. Mai 1906 wurde ich als Sohn des Forstmeisters Emil Meyer und seiner Ehefrau Clara, geb. Wienke zu Gädebehn bei Crivitz (Meckl.) geboren. Nach einem Privatunterricht im Elternhause trat ich Ostern 1916 in der Quinta des Realgymnasiums zu Malchin ein. 1925 bestand ich meine Reifeprüfung und war ein Jahr lang auf der Deutschen Hochschule für Leibesübungen in Berlin-Charlottenburg. Vom S.-S. 1927 studierte ich in Rostock Zahnmedizin, bestand nach drei Semestern mein Physikum und nach weiteren vier Semestern das Staatsexamen.

Literatur.

1. W. Grassmann, Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie, Bd. 27, S. 439, Jg. 1928.
2. Bierry und Giaja, Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 143, 300, 1906.
3. Bierry, Giaja und Henri, Comptes rendus de l'Académie des Sciences 143, 300, 1906 Soc. Biol. 60, 479 (1900); 62, 432 1907.
4. C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, Leipzig 1903, S. 202 u. 204.
5. I. Wohlgemuth, Grundriss der Fermentmethoden, Berlin 1913, S. 30.
6. I. Wohlgemuth, l. c.
7. Michaelis u. Pechstein, Biochem. Ztschr. 59,77 1918.
8. Wohlgemuth, l. c.
9. W. Heubner, Handbuch der normalen und pathalogischen Physiologie, Bd. 16, S. 1445, 1446, 1447, (1931).
10. Glaser, Klinische Wochenschrift, 1924, S. 1492.
11. W. Heubner, l. c., S. 1463.
12. Kataishi, Kunki, Kinki Fujinkwa Gakkwai Zassi, Bd. 8 Nr. 2, S. 2—3 1924. zit. nach Berichten über d. ges. Physiol. u. experiment. Pharmakol. Bd. 34, S. 742.
13. Meyer-Gottlieb, Die experimentelle Pharmakologie als Grundlage der Arzneibehandlung, 7. Aufl. S. 36 1925.
14. Meneghetti, G., Boll. d. soc. di biol. sperim. Bd. 1, Nr. 3, S. 282—84 1926. zit. nach Ber. üb. d. ges. Physiol. u. exper. Pharmakol. Bd. 38, S. 176.
15. Clowes, Hirschfelder u. Serles, Journ. of pharmacol. An experiment therapeut. Bd. 29, Nr. 1. S. 441—48, 1926.
16. Elisio Milheiro, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. Bd. 69, Nr. 12, S. 861—892, 1927.
17. L. Wacker, Biochem. Ztschr 196, 426, 1928.
18. W. Lipschitz, Mechanismus der Giftwirkung aromatischer Nitroverbindungen. Habilitationsschrift Frankfurt a/M. 1920.